



TITLE:

STUDIES ON TYROSINE PHENOL LYASE : A MULTIFUNCTIONAL ENZYME(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Kumagai, Hidehiko

CITATION:

Kumagai, Hidehiko. STUDIES ON TYROSINE PHENOL LYASE : A
MULTIFUNCTIONAL ENZYME. 京都大学, 1970, 農学博士

ISSUE DATE:

1970-09-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/213480>

RIGHT:

氏 名 熊 谷 英 彦
くま がい ひで ひこ
 学位の種類 農 学 博 士
 学位記番号 農 博 第 113 号
 学位授与の日付 昭 和 45 年 9 月 24 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
 研究科・専 攻 農 学 研 究 科 農 芸 化 学 専 攻
 学位論文題目 **STUDIES ON TYROSINE PHENOL LYASE :**
A MULTIFUNCTIONAL ENZYME
 (多機能酵素, チロシンフェノールリアーゼに関する研究)

論文調査委員 (主 査)
 教 授 緒 方 浩 一 教 授 森 田 雄 平 教 授 柄 倉 辰 六 郎

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は微生物の生産する酵素チロシンフェノールリアーゼに関する詳細な研究をとりまとめたものである。

著者はまず本酵素を生産する菌株のスクリーニングを行ない、*Escherichia*, *Aerobacter*, *Proteus* などに属する細菌に酵素活性を認めた。そのうちで最も活性の高い *E. intermedia* を用いて酵素の生成条件を検討し、チロシン培地で誘導培養することにより酵素活性を高めうることを明らかにした。ついで本菌体抽出液より硫酸分別、カラムクロマトグラフィーなどの方法によりチロシンフェノールリアーゼを精製し、結晶状に単離することにはじめて成功した。

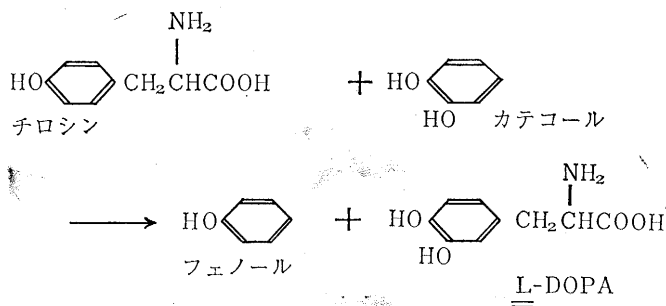
本酵素はアポ酵素として結晶し、分子量は約 170,000 であり、1 分子あたり 2 分子のピリドキサルフォスフェイトを補酵素として結合しうる。またその結合部位はアポ酵素のリジン残基であることを明らかにした。

本酵素はチロシンを化学量論的に、フェノール、ピルビン酸およびアンモニアに分解する。チロシン以外に S-メチルシスチン、シスチン、3, 4-ジヒドロオキシフェニールアラニン (L-DOPA), セリンなども分解反応の基質となりうる。さらにこれらの基質分解の至適 pH, Km 値その他の酵素化学的諸性質を明らかにした。

上記の分解反応に加えて、本酵素は置換反応をも触媒する。すなわち本酵素はチロシンとカテコールとの間のフェニール残基の交換反応を触媒し、L-DOPA を生成する。

この置換反応ではチロシン以外のアミノ酸あるいはフェノール、カテコール以外のフェノール誘導体も基質となりうる。その例として S-メチルシスチンとレゾルシノールから本酵素により、天然には存在しないアミノ酸、2, 4-ジヒドロオキシフェニールアラニンが生成することを証明した。

さらに本酵素の行なう第3の反応としてラセミ化反応がある。すなわち本酵素により L-または D-体のアラニンからラセミ体のアラニンが生成する。



以上のようにチロシンフェノールリアーゼは分解反応，置換反応，ラセミ化反応を触媒する多機能酵素であることをはじめて明らかにした。なお本酵素の置換反応はアミノ酸の新しい生産方法ならびに未知の非天然型のアミノ酸の生合成方法を示唆することを指摘した。

論文審査の結果の要旨

チロシンフェノールリアーゼはチロシンをβ位で分解し，フェノール，ピルビン酸およびアンモニアとすることから，β-チロシナーゼとも呼ばれ，1952年市原らによって *Bacterium coli phenologenes* に見出された。その後1965年 Brot らは *Clostridium tetanomorphum* に本酵素の存在を指摘した。

しかし本酵素の生成条件，精製方法が確立していなかったため純粋な酵素標品が得られないため，その理化学的性質，触媒能，補酵素，活性中心などの酵素化学的性質の詳細については全く不明であった。

著者は本酵素を多数の細菌中に見出し，特に活性の高い *Escherichia intermedia* を用いてチロシン添加培地で培養することにより高い酵素活性を生産させることを見出した。

ついで本菌体より酵素を抽出精製して結晶状に単離することに成功し，この結晶酵素を用いて酵素化学的諸性質を明らかにした。

本酵素はチロシンを化学量論的にフェノール，ピルビン酸およびアンモニアに分解するとともに，分解反応液中にカテコールが存在するとフェノールとカテコールの置換反応をも触媒する。さらに本酵素はL-またはD-体のアラニンをラセミ化する反応をも触媒する。すなわち本酵素は多機能酵素であってこの事実は全く知られていなかった。

この置換反応を利用してチロシンから3,4-ジヒドロオキシフェニールアラニン (L-DOPA) の新合成方法を見出し，また自然界には存在しない新しいアミノ酸2,4-ジヒドロオキシフェニールアラニンを得た。

さらに以上の本酵素の3つの作用についてアポ酵素のリジン残基に結合する補酵素ピリドキサルフォスフェイトとの関連においてその反応機作を推論している。

以上のように本論文は，チロシンフェノールリアーゼの性質を明らかにしたばかりでなく，アミノ酸の新合成法を確立したもので微生物生理学，微生物生産学および酵素化学に貢献するところが大きい。

よって，本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。